

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุดิบ

ของเหลือทิ้งจากขนุนพันธุ์ทองประเสริฐ ได้แก่ เปลือก ชัง และแกนขนุนได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท สไมล์ ฟรุต จำกัด อำเภอแกลง จังหวัดระยอง ซึ่งเป็นโรงงานแปรรูปขนุนทอดกรอบที่ใช้ขนุนที่มีอายุผลขนุน 3 เดือน (ไม่สุกมาก จนนิ่ม) น้ำหนักโดยเฉลี่ยผลละ 10-15 กิโลกรัม เป็นวัตถุดิบในการแปรรูปผลิตภัณฑ์

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (Sartorius, รุ่น BA616, ประเทศเยอรมนี)
2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Sartorius, รุ่น AC2115-OOMS, ประเทศเยอรมนี)
3. เครื่องบด (Coarse Beater Mill) (Retsch Muhle, รุ่น 5657HAAN, ประเทศเยอรมนี)
4. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Blender) (National, รุ่น AC211S, ประเทศไทย)
5. เครื่องบดละเอียด (Ultracentrifuge Mill) (Retsch Ultra, รุ่น ZM 1000, ประเทศเยอรมนี)
6. ตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray Dryer) (บริษัท เทคนิคคอม เอนเจเนียริง จำกัด, ประเทศไทย)
7. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) (Shel Lab, รุ่น 1350 FX, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
8. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) (Sorvall, รุ่น RC5C plus, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) (Heto, รุ่น CB60, ประเทศเดนมาร์ก)
10. เทอร์โมมิเตอร์แบบปรอท 100 องศาเซลเซียส
11. เครื่องวัดสี (Handy Colorimeter) (BYK Gardner, รุ่น Color-Guide 45/ 0, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
12. เครื่องผสม (Vortex Mixer) (Heidolph, รุ่น REAX 2000, ประเทศเยอรมนี)
13. เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture Analyser) (Stable Micro System, รุ่น TA-XT2, ประเทศอังกฤษ)
14. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) (Eutech Cybernetics, รุ่น Cyber Scan pH1000, ประเทศสิงคโปร์)

15. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometers) (Spectronic, รุ่น Genesys 5, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
16. เครื่องกวนสารละลายพร้อมให้ความร้อน (Magnetic Stirrer with Hot Plate) (Cat, รุ่น M6, ประเทศเยอรมนี)
17. ชุดวิเคราะห์โปรตีน ประกอบด้วย
 - 17.1 เครื่องย่อยสาร (Digestion Unit) (Buchi, รุ่น K-424, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)
 - 17.2 เครื่องกำจัดไอกรด (Scrubber Unit) (Buchi, รุ่น B-414, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)
 - 17.3 เครื่องกลั่นสาร (Distillation Unit) (Buchi, รุ่น B-324, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)
18. ชุดวิเคราะห์ไขมัน (Extraction Unit) (Gerhardt, รุ่น S 306 AK, ประเทศเยอรมนี)
19. เตาเผา (Muffle Furnace) (NEY, รุ่น 6-160A, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
20. ตะแกรงร่อนขนาด 20 และ 100 เมช
21. โถดูดความชื้น (Desicator)
22. เครื่องแก้ว

สารเคมี

1. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl) (AR Grade, Merck Darmstadt, ประเทศเยอรมนี)
2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H₂SO₄) (AR Grade, Merck Darmstadt, ประเทศเยอรมนี)
3. เอทิลแอลกอฮอล์ (CH₃CH₂OH) (Commercial Grade, ห้างหุ้นส่วนเคมีกิจจำกัด, ประเทศไทย)
4. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (AR Grade, Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (AR Grade, Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
6. ได-โซเดียมเตตระบอเรต (Na₂C₆H₅O₇·2H₂O) (AR Grade, ห้างหุ้นส่วนเคมีกิจจำกัด, ประเทศไทย)
7. เมตา-ไฮดรอกซีไดฟีนิล (C₁₂H₁₀O) (AR Grade, Fluka, ประเทศสวิสเซอร์แลนด์)
8. เพกทินมาตรฐานชนิดเมทอกซิลต่ำ (Pectin E440, Red Ribbon pure, Obipektin, ประเทศอังกฤษ)
9. ดี-(+) กรดกาแลกทูโรนิก (C₆H₁₀O₇·H₂O) (AR Grade, Fluka, ประเทศสโลวีเนีย)
10. กรดเบนโซอิก (C₆H₅COOH) (AR grade, Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)
11. แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂·H₂O) (AR grade, Ajax Finechem, ประเทศออสเตรเลีย)

12. โซเดียมแซคคาริน (Sodium Saccharin) (AR Grade, ห้างหุ้นส่วนเคมีจำกัด, ประเทศไทย)

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุบ

เตรียมเปลือกขุ่นโดยใช้มีดขูดบริเวณเปลือกสีขาวด้านในที่ติดกับเปลือกนอกที่มีหนามให้มากที่สุด ชั่งขุ่นเลือกเฉพาะซึ่งที่มีลักษณะเป็นเส้น คัดส่วน โคนบริเวณที่ติดกับเปลือกทิ้งไป แขนขุ่นเลือกเฉพาะส่วนสีขาวตัดเส้นแกนแข็งสีน้ำตาลออกให้หมด นำทั้งสามส่วนมาหั่นเป็นชิ้นให้มีขนาดประมาณ 1×1 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง บดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้จากนั้น ลวกเปลือก ชั่งและแกนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เพื่อยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์เพกทิเนส (ณรงค์ ศิริรัมย์, 2546) กรองวัตถุบออกโดยใช้ผ้าขาวบาง จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบลาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งมีความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ บดด้วยเครื่องบดละเอียด (Coarse Beater Mill) ผ่านตะแกรงขนาด 20 เมช เก็บตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกที่ปิดสนิท เพื่อใช้ในการสกัดเพกทินในขั้นตอนต่อไป

สุ่มตัวอย่างเปลือก ชั่ง และแกนขุ่นสดและอบแห้งมาวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมีตามวิธีของ Association of Official Analytical Chemists (1990) ดังนี้

ปริมาณความชื้น (Method 925.09) วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก

ปริมาณเถ้า (Method 923.03) วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก

ปริมาณโปรตีน (Method 920.57) วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก

ปริมาณไขมัน (Method 920.39) วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = 100 - (ความชื้น+เถ้า+โปรตีน+ไขมัน)

2. การคัดเลือกชนิดส่วนเหลือทิ้งของขุ่นที่เหมาะสมในการสกัดเพกทิน

นำเปลือก ชั่ง และแกนขุ่นที่เตรียมจากข้อ 1 มาสกัดเพกทินโดยใช้วิธีสกัดและตกตะกอนเพกทินจากส่วนเหลือทิ้งของขุ่น ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก ณรงค์ ศิริรัมย์ (2546) ดังภาพที่ 3-1

วิธีการสกัด

นำวัตถุบมา 100 กรัมใส่ลงในบีกเกอร์ เติมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล ในอัตราส่วนขุ่นต่อกรดไฮโดรคลอริกเป็น 1: 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร, W/ V) นำไปให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (ในขณะที่ทำการสกัดปิดบีกเกอร์ด้วย

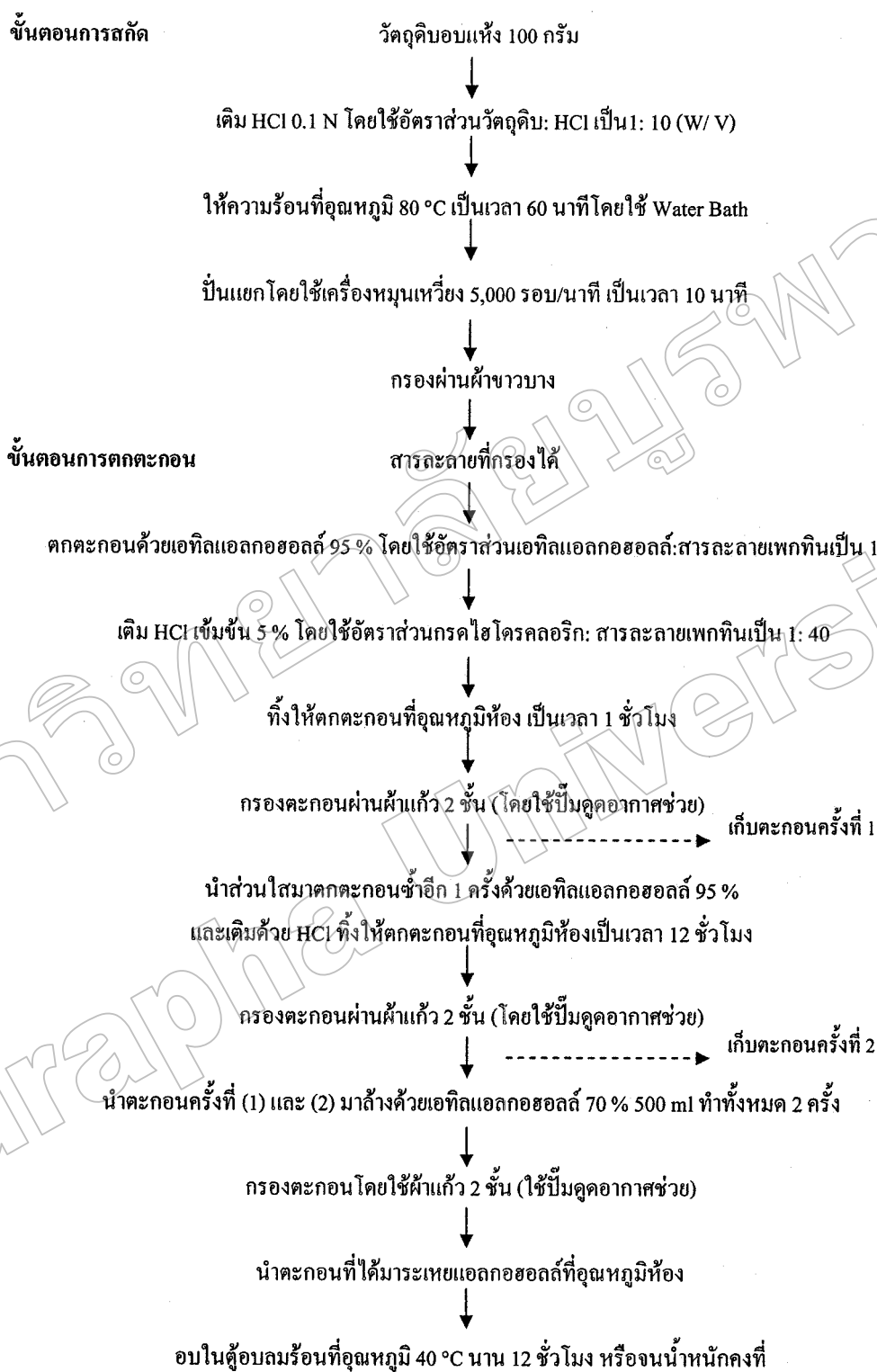
อลูมิเนียมฟอยล์) จากนั้นนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายมากรองผ่านผ้าขาวบาง

วิธีการตกตะกอน

นำสารละลายที่กรองได้ไปตกตะกอนด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ในปริมาตร เท่ากับสารละลายเพกตินที่กรองได้ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ในอัตราส่วนกรด ไฮโดรคลอริกต่อสารละลายเพกตินเป็น 1: 40 โดยปริมาตร (นัยทัศน์ ภูศรีรัมย์, 2521) ทิ้งให้ ตกตะกอนที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรองตะกอนผ่านผ้าแก้ว 2 ชั้น (โดยใช้ปั๊มดูดอากาศ ช่วย) เก็บตะกอน จากนั้นนำสารละลายเพกตินมาตกตะกอนซ้ำอีกครั้ง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรอง ตะกอนผ่านผ้าแก้ว 2 ชั้น (โดยใช้ปั๊มดูดอากาศช่วย) จากนั้นล้างตะกอนทั้งหมดด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 500 มิลลิลิตร ทำเช่นนี้ 2 ครั้ง ระเหยแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเพกติน นำไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช เก็บเพกตินผงที่ได้ในขวดแก้วปิดสนิท

คำนวณหาปริมาณเพกตินที่สกัดได้จาก

$$\text{ปริมาณเพกติน (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักของเพกตินหลังสกัด(กรัม)}}{\text{น้ำหนักของวัตถุดิบก่อนสกัด(กรัม)}} \times 100$$



ภาพที่ 3-1 ขั้นตอนการสกัดและตกตะกอนเพกทิน

วางแผนการทดลองเพื่อหาชนิดของวัตถุดิบที่เหมาะสมในการสกัดเพกทิน โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 11.0 เพื่อหาตัวแปรที่มีผลตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละทรีตเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เลือกชนิดของส่วนเหลือทิ้งที่สกัดเพกทินได้ปริมาณมากที่สุดมาทำการทดลองขั้นต่อไป

3. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของเพกทินที่สกัดได้จากส่วนเหลือทิ้งของขนุน

นำวัตถุดิบที่เลือกได้จากข้อ 2 มาทำการทดลองต่อ โดยใช้การวางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2^k การออกแบบเช่นนี้จะทำให้เกิดการทดลองขนาดเล็กที่สุดที่สามารถจะทำได้ เพื่อศึกษาถึงผลของปัจจัย k ชนิด ระดับของปัจจัยแต่ละชนิด ที่ระดับต่ำแทนด้วย (-1) ระดับสูงแทนด้วย (1) และจุดศูนย์กลาง (Center Point, Cp) แทนด้วย (0) ดังตารางที่ 3-1

ตารางที่ 3-1 ปัจจัยและระดับปัจจัยที่นำมาศึกษาเพื่อประเมินอิทธิพลที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของเพกทินที่สกัดจากของเหลือทิ้งของขนุน

ปัจจัยที่ทำการศึกษา	ตัวแปร	ระดับปัจจัยที่ศึกษา		
		-1	0	1
ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)	X_1	0.2	0.3	0.4
อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด ($^{\circ}\text{C}$)	X_2	60	75	90
เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)	X_3	45	67.5	90
อัตราส่วนของวัตถุดิบต่อกรด	X_4	1: 10	1: 15	1: 20

ในการทดลองได้ศึกษาปัจจัยที่มีความสำคัญ 4 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด และอัตราส่วนของวัตถุดิบต่อกรด โดยกำหนดขอบเขตของทุกปัจจัยที่เลือกใช้ดังตารางที่ 3-1 และในแผนการทดลองยังมีการเพิ่มจุดศูนย์กลางทั้งหมด 5 จุด ให้แก่การทดลอง 2^4 เป็นการเพิ่มซ้ำเพื่อจะได้ประเมินค่าความผิดพลาดได้ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติในการออกแบบการทดลอง จึงมีการทดลองรวมทั้งสิ้น 21 การทดลอง ดังตารางที่ 3-2 ในแต่ละการทดลองเป็นไปตามลำดับการสุ่มเลือกโดยใช้วิธีการสกัด

และตกตะกอนเพกทินตามข้อ 2 วิเคราะห์ความแปรปรวน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 11.0 เพื่อหาตัวแปรที่มีผลตอบสนองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เลือกปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณและคุณภาพของเพกทินที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มาทำการทดลองขั้นต่อไป

ตารางที่ 3-2 แผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล 2^4 ที่ใช้ในการสกัดเพกทินจากของเหลือทิ้งของขนุนเพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดเพกทิน

การทดลอง	ระดับของปัจจัยที่ใช้			
	ความเข้มข้น HCl (N)	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	อัตราส่วน
1	-1 (0.2)	-1 (60)	-1 (45)	-1 (1: 10)
2	1 (0.4)	-1 (60)	-1 (45)	-1 (1: 10)
3	-1 (0.2)	1 (90)	-1 (45)	-1 (1: 10)
4	1 (0.4)	1 (90)	-1 (45)	-1 (1: 10)
5	-1 (0.2)	-1 (60)	1 (90)	-1 (1: 10)
6	1 (0.4)	-1 (60)	1 (90)	-1 (1: 10)
7	-1 (0.2)	1 (90)	1 (90)	-1 (1: 10)
8	1 (0.4)	1 (90)	1 (90)	-1 (1: 10)
9	-1 (0.2)	-1 (60)	-1 (45)	1 (1: 20)
10	1 (0.4)	-1 (60)	-1 (45)	1 (1: 20)
11	-1 (0.2)	1 (90)	-1 (45)	1 (1: 20)
12	1 (0.4)	1 (90)	-1 (45)	1 (1: 20)
13	-1 (0.2)	-1 (60)	1 (90)	1 (1: 20)
14	1 (0.4)	-1 (60)	1 (90)	1 (1: 20)
15	-1 (0.2)	1 (90)	1 (90)	1 (1: 20)
16	1 (0.4)	1 (90)	1 (90)	1 (1: 20)
17 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
18 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
19 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
20 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
21 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)

4. การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพกทิน

นำปัจจัยที่เลือกได้จากข้อ 3 มาทำการทดลองต่อโดยใช้การวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design และมีการเพิ่ม Axial Point (Ap) คือ จุดที่เพิ่มเข้าไปในการทดลองซึ่งจุดเหล่านี้อยู่บนแกนตั้งและแกนนอนของแต่ละปัจจัย โดยมีระยะห่างจากจุดศูนย์กลาง (Cp) ของการทดลองเท่ากับ α ทั้งด้านบวกและด้านลบของจุดศูนย์กลาง สำหรับการทดลองที่มี k ปัจจัย จะมี Axial Point จำนวน $2k$ จุด ดังนั้นแผนการทดลองแบบสมบูรณ์จึงมี 29 การทดลอง ดังตารางที่ 3.3

จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ เพื่อสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ทำการศึกษาหรือตัวแปรตามกับค่าตอบสนองหรือตัวแปรอิสระ จากนั้นทำการหาระดับที่เหมาะสมของปัจจัยที่ศึกษาจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ได้ ทดสอบความเหมาะสมของตัวแบบกับข้อมูล โดยใช้ Lack of Fit Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยสมมติฐานของการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามกับตัวแปรอิสระดังตัวแบบ

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 + \varepsilon$$

หมายเหตุ Y คือ ตัวแปรตาม ได้แก่ ปริมาณเพกทิน

β_0 คือ ค่าคงที่

$\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ คือ สัมประสิทธิ์ของอิทธิพลเชิงเส้นตรงของตัวแปรอิสระ X_1, X_2, X_3, X_4 ตามลำดับ

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}, \beta_{34}$ คือ สัมประสิทธิ์ของอิทธิพลของอันตรกิริยาระหว่างตัวแปรอิสระ 2 ตัว

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{44}$ คือ สัมประสิทธิ์ของอิทธิพลเชิงเส้นโค้งของตัวแปรอิสระ

ค่าสัมประสิทธิ์ของปัจจัยบ่งบอกถึงค่าอิทธิพลของปัจจัย คือ ถ้าปัจจัยใดมีค่าสัมประสิทธิ์สูง หมายความว่า ปัจจัยนั้นมีอิทธิพลต่อตัวแปรตาม ส่วนเครื่องหมายแสดงถึงทิศทางอิทธิพล ถ้ามีค่าสัมประสิทธิ์เป็นลบ หมายถึง ปัจจัยมีอิทธิพลต่อตัวแปรตามในทิศทางตรงกันข้ามกล่าวคือ เมื่อเพิ่มค่าของปัจจัยมีผลทำให้ตัวแปรตามมีค่าลดลง และถ้าค่าสัมประสิทธิ์มีค่าเป็นบวก หมายถึง ปัจจัยมีอิทธิพลต่อตัวแปรตามไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือเมื่อเพิ่มปัจจัยมีผลทำให้ตัวแปรตามมีค่าเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 3-3 แผนการทดลองแบบ Central Composite Design ที่ใช้ในการสกัดเพกทินจากของเหลือทิ้งของขนุนเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเพกทิน

การทดลอง	ระดับของปัจจัยที่ใช้			
	ความเข้มข้น HCl (N)	อุณหภูมิ (°C)	เวลา (นาที)	อัตราส่วน
1	-1 (0.2)	-1 (60)	-1 (45)	-1 (1: 10)
2	1 (0.4)	-1 (60)	-1 (45)	-1 (1: 10)
3	-1 (0.2)	1 (90)	-1 (45)	-1 (1: 10)
4	1 (0.4)	1 (90)	-1 (45)	-1 (1: 10)
5	-1 (0.2)	-1 (60)	1 (90)	-1 (1: 10)
6	1 (0.4)	-1 (60)	1 (90)	-1 (1: 10)
7	-1 (0.2)	1 (90)	1 (90)	-1 (1: 10)
8	1 (0.4)	1 (90)	1 (90)	-1 (1: 10)
9	-1 (0.2)	-1 (60)	-1 (45)	1 (1: 20)
10	1 (0.4)	-1 (60)	-1 (45)	1 (1: 20)
11	-1 (0.2)	1 (90)	-1 (45)	1 (1: 20)
12	1 (0.4)	1 (90)	-1 (45)	1 (1: 20)
13	-1 (0.2)	-1 (60)	1 (90)	1 (1: 20)
14	1 (0.4)	-1 (60)	1 (90)	1 (1: 20)
15	-1 (0.2)	1 (90)	1 (90)	1 (1: 20)
16	1 (0.4)	1 (90)	1 (90)	1 (1: 20)
17 (Ap)	- α (0.1)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
18 (Ap)	α (0.5)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
19 (Ap)	0 (0.3)	- α (45)	0 (67.5)	0 (1: 15)
20 (Ap)	0 (0.3)	α (105)	0 (67.5)	0 (1: 15)
21 (Ap)	0 (0.3)	0 (75)	- α (22.5)	0 (1: 15)
22 (Ap)	0 (0.3)	0 (75)	α (112.5)	0 (1: 15)
23 (Ap)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	- α (1: 5)
24 (Ap)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	α (1: 25)
25 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
26 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
27 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
28 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)
29 (Cp)	0 (0.3)	0 (75)	0 (67.5)	0 (1: 15)

จากความสัมพันธ์ดังกล่าวทำการคัดเลือกระดับปัจจัยที่เหมาะสมของภาวะในการสกัด เพกทินที่ให้ปริมาณเพกทินสูงสุด โดยพิจารณาแนวโน้มของปริมาณเพกทินที่สกัดได้เมื่อระดับของ ปัจจัยที่ทำการศึกษาย้ายไปโดยใช้พื้นผิวตอบสนอง (Response Surface) และจากกราฟ Contour Plot ทหาระดับของปัจจัยในกระบวนการผลิตที่ให้ปริมาณผลผลิตเพกทินสูงสุด และเรียกจุดแทน ค่าสูงสุดและต่ำสุดว่า Stationary Point หรืออาจเป็น Saddle Point ของผลลัพธ์โดยพิจารณาจาก กราฟ Surface Plot ของสมการ Response Surface

นำเพกทินที่สกัดได้ในแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้ (วิธีวิเคราะห์ แสดงดังภาคผนวก ก)

1. ปริมาณความชื้น (AOAC Method 925.09, 1990)
 2. ปริมาณเถ้า (AOAC Method 923.03, 1990)
 3. น้ำหนักสมมูลย์ (Eq.Wt.) (Ranganna, 1986)
 4. ปริมาณเมทอกซิล (MeO) (Ranganna, 1986)
 5. ระดับการเกิดเอสเทอร์ (DE) (Schultz, 1976)
 6. ปริมาณกรดยูโรนิก (Uronic Acid) (Blumenkrantz and Asboe-Hansen, 1973)
- 5. การทดสอบความแม่นยำของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของปริมาณเพกทินที่สกัดได้ในภาวะที่เหมาะสม**

ทำการสุ่มเลือกภาวะการสกัดทั้งหมด 5 ภาวะที่ครอบคลุมระดับสูงสุดและต่ำสุดของ ปัจจัยทุกปัจจัยที่ภาวะเหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด ทดสอบความแม่นยำ ของแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ วิเคราะห์หาปริมาณเพกทินที่สกัดได้จากภาวะที่คัดเลือกไว้โดยทำ การเปรียบเทียบค่าสังเกตที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ทำนายได้จากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ โดย ใช้ Independent Sample t-Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

6. การศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของเพกทินที่สกัดได้ในภาวะที่เหมาะสม เปรียบเทียบกับเพกทินทางการค้า

6.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของเพกทินที่สกัดได้และเพกทินทางการค้าชนิด เมทอกซิลต่ำ

ทำการสกัดและตกตะกอนเพกทินจากของเหลือทิ้งของขนุน ในภาวะที่เหมาะสม ตามที่คัดเลือกได้จากข้อ 4 จากนั้นนำเพกทินที่สกัดได้ และเพกทินทางการค้าชนิดเมทอกซิลต่ำมา วิเคราะห์สมบัติทางเคมี เช่นเดียวกับการวิเคราะห์คุณภาพของเพกทินในข้อ 4 โดยวิเคราะห์ปริมาณ ความชื้น ปริมาณเถ้า น้ำหนักสมมูลย์ ปริมาณเมทอกซิล ปริมาณกรดยูโรนิก และระดับการเกิด เอสเทอร์ (วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ก)

6.2 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของเพกทินที่สกัดได้และเพกทินทางการค้าชนิดเมทอกซิลต่ำ

วัดค่าสีของเพกทินที่สกัดได้และเพกทินทางการค้าชนิดเมทอกซิลต่ำ โดยใช้เครื่องวัดสี Handy Colorimeter รายงานผลเป็นค่าความสว่าง (Lightness, L^*) ค่าความเป็นสีแดง (Redness, a^*) ค่าความเป็นสีเหลือง (Yellowness, b^*) ค่าเฉดสี (Hue, h^*) และค่าความเข้มสี (Chroma, C^*) โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ครั้ง (วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ข)

7. การศึกษาการใช้ประโยชน์เพกทินที่สกัดได้จากของเหลือทิ้งของขนุนกับเพกทินทางการค้าในการผลิตเยลลี่สับปะรดแคลอรีต่ำ

นำเพกทินที่สกัดได้จากภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 4 ไปทดลองผลิตเป็นเยลลี่สับปะรดแคลอรีต่ำเปรียบเทียบกับเพกทินทางการค้า ซึ่งวิธีการทำเยลลี่แสดงดังภาคผนวก ง จากนั้นนำเยลลี่สับปะรดไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของเยลลี่ ดังนี้

7.1 วิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล

วิเคราะห์ความแข็งแรงของเจล โดยใช้เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture Analyzer รุ่น TA-XT2 โดยใช้หัววัด (Probe) รูปทรงกลมชนิด 0.25 มิลลิเมตร ($p/0.25s$) มีลักษณะเป็นสแตนเลสทรงกลม (Ball Probe) ทิ่มทะลุเนื้อเจล กำหนดภาวะในการวัดให้ความเร็วก่อนและหลังทิ่มทะลุเนื้อเจลเท่ากับ 10 มิลลิเมตร/วินาที ความเร็วขณะทิ่มทะลุเนื้อเจลเท่ากับ 1.1 มิลลิเมตร/วินาที เป็นระยะทาง 15 มิลลิเมตร อ่านค่าระยะทาง และค่าแรงสูงสุดที่ทำให้เจลแตกจากกราฟ (วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ข)

7.2 วัดค่าสีของเจล

วัดค่าสีของเจล โดยนำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี Handy Colorimeter รายงานผลเป็นค่าความสว่าง ค่าความเป็นสีแดง ค่าความเป็นสีเหลือง ค่าเฉดสี และค่าความเข้มสี โดยแต่ละตัวอย่างจะทำการวัด 3 ครั้ง (วิธีวิเคราะห์แสดงดังภาคผนวก ข)